

# Микросателитен ДНК профил на генеалогичните фамилии при Източнобългарската порода коне

Илияна Събева

*Земеделски Институт – Шумен, Селскостопанска Академия, София*

*\*Кореспондиращ автор: iliana\_sabeva@abv.bg*

## Резюме

Целта на настоящото проучване е да направим ДНК профил на генеалогичните фамилии от Източнобългарска порода коне и да определим генетичните дистанции между тях. Обект на анализи бяха резултатите от генетичното картиране на 266 коня по отношение на 15 микросателитни маркера (SSRs – прости последователности на повторенията от два до шест нуклеотида), както следва: АНТ4, АНТ5, ASB2, ASB17, ASB23, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТГ4, НТГ6, НТГ7, НТГ10 и VHL20.

Висок полиморфизъм е установен в локусите ASB17, ASB23 и ASB2. Със средно висока стойност е генетичното разнообразие в НТГ10 и VHL20. Наблюдаваната, очаквана и средна хетерозиготност са близки до тези за породата. Специфичният профил на всяка една от изследваните фамилии се определя от алелите с ниска честота и от дела на хомозиготните генотипи в локусите НТГ4, АНТ4, НТГ7, HMS1 и НТГ6, при които се наблюдава дефицит на хетерозиготи. Рядко срещани комбинации при ездовите породи коне са G в АНТ4 при фамилията на Охота; T в ASB23 при Ликующа и Лейла; S, T и U в ASB23 при Лонгуза, и S и U в ASB23 при Килия. Q в HMS3 се среща при коне от фамилиите на Ликующа и Охота, а Q в VHL20 и T в HMS3 – само при коне от фамилията на Лейла. Алелът R е установен в локуса HMS2 при фамилиите на Ликующа и Неразделна и в HMS6 при Неразделна и Охота.

Близки генетични връзки са установени между фамилиите на Ликующа и Лейла, и между Лонгуза и Охота. През последните две генерации се наблюдава намаляване на генетичните дистанции между фамилиите на Лонгуза и Охота, и между Неразделна, Ликующа и Лейла.

**Ключови думи:** генетично разнообразие; микросателитни маркери; междуфамилна диференциация; Източнобългарска порода коне

## Microsatellite DNA profile of genealogical families in the East Bulgarian horse breed

Iliyana Sabeva

*Agricultural institute – Shumen, Agricultural Academy, Sofia*

*\*Corresponding author: iliana\_sabeva@abv.bg*

**Citation:** Sabeva, I. (2023). Microsatellite DNA profile of genealogical families in the East Bulgarian horse breed. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, 60(2), 36-44 (Bg).

## Abstract

The aim of the present study was to make a DNA profile of the genealogical families of the East Bulgarian Horse breed and to determine the genetic distances between them. The results of the genetic mapping of 266 horses with respect to 15 microsatellite markers (SSRs – simple repeat sequences from two to six nucleotides) were analyzed as follows: AHT4, AHT5, ASB2, ASB17, ASB23, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, HTG4, HTG6, HTG7, HTG10 and VHL20.

High polymorphism was found in the loci ASB17, ASB23 and ASB2. Genetic diversity in HTG10 and VHL20 was moderately high. Observed, expected and average heterozygosity are close to those of the breed. The specific profile of each of the studied families was determined by the alleles with low frequency and by the proportion of homozygous genotypes at the loci HTG4, AHT4, HTG7, HMS1 and HTG6, where heterozygote deficiency was observed. Rare combinations in riding horses are G in AHT4 in the Ohota family; T in ASB23 at Likuyushta and Leila; S, T and U in ASB23 at Longuza, and S and U in ASB23 at Kilia. Q in HMS3 occurs in horses of the Likuyushta and Ohota families, and Q in VHL20 and T in HMS3 only in horses of the Leila family. The R allele was found in the HMS2 locus in the families of Likuyushta and Nerazdelna and in HMS6 in Nerazdelna and Ohota.

Close genetic links have been established between the families of Likuyushta and Leila, and between Longuza and Ohota. Over the past two generations, there has been a reduction in genetic distances between the families of Longuza and Ohota, and between Nerazdelna, Likuyushta and Leila.

**Key words:** genetic diversity; microsatellite markers; inter-families differentiation; East Bulgarian Horse breed

## Въведение

Източнобългарският кон е отечествена полукръвна ездова порода с изградена генеалогична структура. Призната е с постановление № 631/12.06.1951, по доклад № 250/10.02.1951 на Министъра на Земеделието и към настоящия момент е със статут на застрашена от изчезване.

При определянето на подборите в заводските стада коне до голяма степен се разчита на общата и специфична комбинативна съчетаемост между линиите и фамилиите (Sabeva, 1995). При продължителна селекция се сформират т.н. генеалогични комплекси. Според Karaivanov, R. and Ganchev, D. (1981) към генеалогичния комплекс се отнасят онези кобили майки, които независимо от своя линеен произход дават най-добри съчетания с представителите на дадена линия. При усъвършенстването на популации с ограничен генофонд приносът на кобилите с консолидирана наследственост е значителен и може

да има съществен дял в реализирания генетичен прогрес.

Микросателитните маркери предоставят добри възможности за оценка на генетичното разнообразие и генетичните връзки между различни породи или вътрепородни групи. Те са и добър информационен източник за историческото и еволюционно развитие на популациите. Ползите от молекулярните маркери са документирани от Guerin et al. (1994), Meyer et al. (1997), Kakoï et al. (1999), Cunningham et al. (2001), Derringer, D. & Schlötterer, C. (2003), Seyedabadi et al. (2017) и др. Резултатите от проучванията през последните години показват, че породите и техните структурни единици имат уникален микросателитен профил, въз основа на който следва да бъдат предприети адекватни мерки за мониторинг, съхранение или консервация (Burzev et al., 2010, Eo et al., 2014, Vlaeva, R., 2015, Vlaeva, R., & Lukanova, N., 2015, Atiq et al., 2018, Ustyantseva et al., 2019, Shelyov et al., 2020, Vdovina et al., 2021, Yordanov et al., 2022)

и др.). При повечето от популациите генетичното разнообразие по майчина страна е много по-високо от това по бащина. Висок полиморфизъм при фамилни и филогенетични анализи са установили Zaitseva et al. (2010), Winton et al. (2012), Sargious et al. (2022) и др.

Целта на настоящото проучване е да направим генетичен SSRs профил на генеалогичните фамилии и да определим генетичните дистанции между тях.

### Материал и методи

За основа на проучването послужиха резултатите от генетичното картиране на 266 коня от Източнобългарска порода по отношение на 15 микросателитни маркера (SSRs – прости последователности на повторенията от два до шест нуклеотида), както следва: АНТ4, АНТ5, ASB2, ASB17, ASB23, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТГ4, НТГ6, НТГ7, НТГ10 и VHL20. Тяхната надеждност за статистически цели е потвърдена от International Society of Animal Genetics (ISAG). За изолиране на ДНК бяха използвани космени луковици от гривата или опашката на конете. Анализите бяха извършени в лицензирана лаборатория – Gene Control, Германия.

Генеалогичната принадлежност на всички коне, притежаващи индивидуални микросателитни карти, бе извършена чрез проследяване на техния произход до шести пояс на родословието.

Генетичното разнообразие бе оценено чрез параметрите, общ брой на алелните варианти ( $N_a$ ), ефективен брой на алелните варианти ( $N_e$ ), индекса на Shannon ( $I$ ), наблюдавана хетерозиготност ( $H_o$ ), очаквана хетерозиготност ( $H_e$ ), средна хетерозиготност ( $Ave\_Net$ ), вътрепопулационен коефициент на инбридинг ( $F_{is}$ ) и коефициент на генетична диференциация между фамилиите ( $F_{st}$ ), въз основа на който са установени генетичните дистанции между тях. Изчислителните процедури бяха извършени чрез софтуерния пакет от програми POPGENE v.1.31. (1999).

### Резултати и обсъждане

От развиващите се през последните два генерационни интервала 10 фамилии с по-голяма репрезентативност на извадката са тези на кобилите Ликующа и Лейла, зложени в конезавода Кабиюк, и Неразделна и Охота, зложени в бившия конезавод Стефан Караджа.

#### *Фамилия на Ликующа*

Наблюдаваният брой на алелите е бил средно  $5,467 \pm 1,552$ , а ефективният  $3,569 \pm 1,322$  (таблица 1). Разнообразие над средното за породата ( $I = 1,518$ ) е установено в локусите: ASB23 с 9 алела,  $I = 1,952$  и наблюдавана хетерозиготност  $0,857$ ; ASB17 с 8 алела,  $I = 1,917$  и наблюдавана хетерозиготност  $0,762$ ; ASB2 със 7 алела,  $I = 1,574$  и наблюдавана хетерозиготност  $0,619$ . Стойности под наблюдаваната за фамилията хетерозиготност са установена в АНТ4, АНТ5, ASB2, HMS1, НТГ4 и НТГ7. При тези маркери около 38–48% от генотипите са хомозиготни.

#### *Фамилия на Лейла*

Лейла е основоположничка на най-късно формираната фамилия, при която микросателитният полиморфизъм е добре изразен. Наблюдаваният брой на алелите варира от 5 до 10, средно  $6,267 \pm 1,579$  при среден  $I = 1,408$  и наблюдавана хетерозиготност  $0,750$  (таблица 1). Най-високо генетично разнообразие е установено в локусите ASB2, ASB17, HMS6, HMS7 и НТГ10, при които стойностите на наблюдаваната хетерозиготност превъзхождат тези на останалите локуси. Най-висок дял на хомозиготни генотипи се наблюдава в локуса НТГ4 ( $H_o = 0,567$  при  $N_e = 0,609$ ).

#### *Фамилия на Неразделна*

Средният наблюдаван брой на алелите е бил  $6,133 \pm 1,457$ , а ефективният –  $3,270 \pm 0,912$  (таблица 2). Висок полиморфизъм е установен в локусите ASB17 (9 алела), ASB2 (8 алела), ASB23 (8 алела) и HMS2 (8 алела). От 4 до 6 алела съдържат останалите включени

в изследването локуси. Генетичното разнообразие в ASB2 ( $I = 1,740$  и  $H_o = 0,864$ ) и ASB23 ( $I = 1,717$  и  $H_o = 0,841$ ) превъзхожда средното за породата. Над средното за фамилията е разнообразието в локусите АНТ5, ASB17, HMS7, НТG10 и HMS3. Наблюдаваната хетерозиготност ( $H_o$ ) в АНТ4, HMS1, HMS2, НТG4 НТG7 е в диапазона от 0,500 до 0,659, очакваната ( $H_o$ ) е от 0,449 до 0,606. Делът на хомозиготните генотипи е 50% в НТG4 и НТG7, 44% в HMS1 и 41% в HMS6.

#### *Фамилия на Охота*

Наблюдаваният брой алели при представителите на фамилията е в диапазона от 5 до 9 (таблица 2). В четири от локусите броят на алелите е над 6: ASB17 (9 алела), ASB2 (8 алела), НТG10 (7 алела) и VHL20 (7 алела). Индексът на Shannon е бил средно  $1,449 \pm 0,277$ , с максимални стойности при ASB2 (1,885), следвана от ASB17 (1,695), ASB23 (1,657), HMS7 (1,691) и НТG10 (1,651). Общата хетерозиготност е близка до тази на породата. При НТG4 и HMS1  $H_o$  е с най-ниски стойности (0,537 и 0,592). Под средната за фамилията е наблюдаваната и очаквана хетерозиготност и в локусите АНТ4, НТG4, НТG6 и НТG7.

От алелите с много ниска честота Q в HMS3 се среща при коне от фамилиите на Ликующа и Охота, а Q в VHL20 и T в HMS3 – само при коне от фамилията на Лейла. Алелът R е установен в локуса HMS2 при фамилиите на Ликующа и Неразделна и в HMS6 при Неразделна и Охота. Рядко срещани комбинации при ездовите породи коне са G в АНТ4 при фамилията на Охота и T в ASB23 при Ликующа и Лейла (таблицы 1 и 2). По данни на Zaitseva (2010) алелът T в ASB23 е открит при коне от Тувинска, Задбайкалска и Хакаска породи. За същата локация на T съобщават Kalinkova et al. (2019) при Орловски рисаци. Към категорията редки се причисляват алелите Q, R, S и T в ASB17 и НТG10 при коне от Мезенска порода (Vdovina, N. V. and Yuryeva, I. B., 2021). Алелите Q и R в ASB2 и ASB17, U в ASB23 и G в НТG6, които според Ustyantseva et al. (2019) са типични за Ахал-

текинската порода, при конете от проучваните фамилии се срещат с ниска честота.

#### *Други фамилии*

Фамилиите на Ходеида ( $n = 6$ ), Килия ( $n = 17$ ), Лонгуза ( $n = 18$ ) и Славянка ( $n = 16$ ) са заложи в КЗ Кабиюк. До предходния генерационен интервал тяхното развитие е било само в заводското стадо. Наблюдаваният брой на алелите при Ходеида е бил средно  $4,600 \pm 0,091$  в диапазон от 3 до 6 алела в отделните локуси; при Килия – средно  $5,600 \pm 1,121$ , от 4 до 8 алела; при Лонгуза –  $4,933 \pm 1,486$ , от 3 до 8 алела; и при Славянка средно  $5,067 \pm 1,128$ , от 3 до 7 алела. За специфични особености на тази група фамилии могат да бъдат посочени: относително висока честота на алела B в ASB2 при конете с произход от Ходеида; относително висока честота на алела R в ASB17 и на алела G в НТG6 при Ходеида, Лонгуза и Килия; наличие на „редките“ алели S, T и U в ASB23 при Лонгуза и S и U при Килия. Генетично разнообразие по отношение на полиморфизма и наблюдаваната хетерозиготност над средното за породата е установено в локусите от серията ASB и VHL20 и при четирите фамилии.

Представителите на фамилиите на Материя ( $n = 6$ ) и Водка ( $n = 10$ ) са с произход от бившия конезавод Стефан Караджа. Средният наблюдаван брой на алелите при фамилията на Материя е  $3,667 \pm 1,046$  в диапазон от 2 до 5. Средните стойности на I и  $H_o$  са  $1,121 \pm 0,300$  и съответно  $0,766 \pm 0,197$ . Приблизително еднакво е по-голямото разнообразие и наблюдаваната хетерозиготност в локусите ASB17, HMS3, HMS6 и НТG10. Хомозиготни са 50% от генотиповете в HMS2 и НТG7. При фамилията на Водка броят на алелите варира от 3 до 6, средно  $4,533 \pm 1,060$ . Вероятно поради малките разлики в броя на алелите по локуси индексите на Shannon на ASB17, ASB23, HMS3, HMS6, HMS7 и НТG10 имат стойности около средното. Най-ниско е било разнообразието в АНТ4 ( $H_o = 0,300$ ) и HMS1 ( $H_o = 0,400$ ). При фамилиите на Материя и Водка, чиито представителки не са използвани за разплод в КЗ Кабиюк, не са установе-

**Таблица 1.** Наблюдаван и ефективен брой на алелите, индекс на Shannon и средна хетерозиготност по фамилии  
**Table 1.** Observed and effective number of alleles, frequency, Shannon's index and observed (Ho) heterozygosity of the families

Фамилия / Family	Лижующа (n = 21) / Likuyushtha (n = 21)					Лейла (n = 74) / Leila (n = 74)				
Локус	Na	Ne	алели / alleles	I	Ho	Na	Ne	алели / alleles	I	Ho
AHT4	5	2,303	H <sup>4</sup> , J <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , O <sup>1</sup>	1,114	0,619	5	2,767	H <sup>5</sup> , J <sup>4</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , O <sup>1</sup>	1,212	0,676
AHT5	5	2,520	J <sup>1</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup>	1,228	0,571	5	3,639	J <sup>2</sup> , K <sup>2</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup>	1,421	0,689
ASB2	7	3,868	B <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>2</sup> , O <sup>5</sup> , Q <sup>3</sup> , R <sup>5</sup>	1,574	0,619	9	4,384	B <sup>5</sup> , I <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>3</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>4</sup> , R <sup>5</sup>	1,670	0,851
ASB17	8	6,041	F <sup>5</sup> , G <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>4</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , R <sup>4</sup>	1,917	0,762	10	5,079	F <sup>5</sup> , G <sup>5</sup> , H <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>4</sup>	1,826	0,838
ASB23	9	6,255	I <sup>5</sup> , J <sup>5</sup> , K <sup>4</sup> , L <sup>4</sup> , N <sup>5</sup> , S <sup>4</sup> , T <sup>5</sup> , U <sup>4</sup>	1,952	0,857	7	4,365	I <sup>5</sup> , J <sup>3</sup> , K <sup>3</sup> , L <sup>4</sup> , S <sup>5</sup> , T <sup>5</sup> , U <sup>5</sup>	1,656	0,757
HMS1	3	2,172	I <sup>5</sup> , J <sup>1</sup> , M <sup>1</sup>	0,847	0,571	5	2,279	I <sup>5</sup> , J <sup>1</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>1</sup> , N <sup>5</sup>	0,961	0,716
HMS2	5	3,231	H <sup>3</sup> , K <sup>3</sup> , L <sup>2</sup> , M <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,261	0,905	5	3,169	H <sup>3</sup> , I <sup>5</sup> , K <sup>4</sup> , L <sup>2</sup> , M <sup>5</sup>	1,272	0,783
HMS3	6	3,706	I <sup>3</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>4</sup> , P <sup>2</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,451	0,714	7	3,468	I <sup>3</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>2</sup> , R <sup>5</sup> , T <sup>5</sup>	1,446	0,797
HMS6	5	3,851	K <sup>5</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>2</sup>	1,465	0,762	5	4,656	K <sup>4</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>4</sup>	1,568	0,838
HMS7	6	3,851	J <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>2</sup>	1,513	0,714	6	4,434	J <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>3</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>4</sup>	1,585	0,838
HTG4	5	2,267	K <sup>4</sup> , M <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup>	1,085	0,571	6	2,536	K <sup>3</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup>	1,107	0,568
HTG6	4	2,911	G <sup>4</sup> , J <sup>3</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>1</sup>	1,147	0,762	5	2,792	G <sup>4</sup> , I <sup>5</sup> , J <sup>1</sup> , M <sup>5</sup> , O <sup>2</sup>	1,253	0,716
HTG7	4	2,046	K <sup>4</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>1</sup> , P <sup>5</sup>	0,967	0,524	5	2,382	K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>1</sup> , R <sup>5</sup>	1,070	0,716
HTG10	5	4,846	I <sup>4</sup> , K <sup>3</sup> , M <sup>4</sup> , O <sup>4</sup> , R <sup>4</sup>	1,594	0,762	7	4,629	I <sup>3</sup> , K <sup>4</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>4</sup> , R <sup>5</sup>	1,649	0,811
VHL20	5	3,675	I <sup>2</sup> , L <sup>3</sup> , M <sup>3</sup> , N <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,403	0,809	7	4,052	I <sup>3</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>3</sup> , N <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,558	0,626
Mean	5,467	3,569		1,368	0,702	6,267	3,643		1,408	0,750
St. Dev.	1,552	1,322		0,320	0,115	1,579	0,938		0,265	0,082

\* n – брой коне; Na – наблюдаван брой алели; Ne – ефективен брой алели; I – индекс на Shannon; Ho – средна наблюдавана хетерозиготност

\* n – observed number of horses; Na – observed numbers of alleles; Ne – effective numbers of alleles; I – Shannon's index; Ho – average observed heterozygosity

\* – Диапазони на алелната честота I<sup>1-5</sup>: I ≥ 0,45; 0,35 ≥ 2 ≤ 0,44; 0,25 ≥ 3 ≤ 0,35; 0,15 ≥ 4 ≤ 0,24; 0,00 ≥ 5 ≤ 0,14

\* – Allele's frequency I<sup>1-5</sup>: I ≥ 0,45; 0,35 ≥ 2 ≤ 0,44; 0,25 ≥ 3 ≤ 0,35; 0,15 ≥ 4 ≤ 0,24; 0,00 ≥ 5 ≤ 0,14



**Таблица 2.** Наблюдаван и ефективен брой на алелите, индекс на Shannon и средна хетерозиготност по фамилии  
**Table 2.** Observed and effective number of alleles, frequency, Shannon's index and observed (Ho) heterozygosity of the families

Фамилия / Family	Неразделна (n = 44) / Nerazdelna (n = 44)				Охота (n = 54) / Ohota (n = 54)					
	Na	Ne	I	Ho	Na	Ne	I	Ho		
AHT4	5	2,499	H <sup>5</sup> , J <sup>4</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>5</sup> , O <sup>1</sup>	1,161	0,659	5	2,849	G <sup>5</sup> , H <sup>5</sup> , J <sup>3</sup> , K <sup>5</sup> , O <sup>1</sup>	1,206	0,630
AHT5	6	4,145	I <sup>5</sup> , J <sup>5</sup> , K <sup>3</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>2</sup> , O <sup>5</sup>	1,552	0,834	5	3,424	J <sup>3</sup> , K <sup>2</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup>	1,378	0,741
ASB2	8	4,699	B <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>2</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>4</sup>	1,740	0,864	8	5,786	B <sup>5</sup> , K <sup>4</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,885	0,778
ASB17	9	2,988	G <sup>5</sup> , H <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>1</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,463	0,704	9	4,053	F <sup>5</sup> , G <sup>5</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>4</sup> , P <sup>5</sup> , Q <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,695	0,889
ASB23	8	4,550	I <sup>5</sup> , J <sup>5</sup> , K <sup>2</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , T <sup>5</sup> , U <sup>5</sup>	1,717	0,841	6	4,741	I <sup>5</sup> , J <sup>5</sup> , K <sup>4</sup> , L <sup>3</sup> , S <sup>5</sup> , U <sup>4</sup>	1,657	0,796
HMS1	6	2,460	I <sup>5</sup> , J <sup>1</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>2</sup> , N <sup>5</sup>	1,097	0,568	5	2,267	I <sup>5</sup> , J <sup>1</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>3</sup> , N <sup>5</sup>	0,948	0,593
HMS2	8	2,782	H <sup>5</sup> , I <sup>5</sup> , K <sup>3</sup> , L <sup>1</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,320	0,682	6	4,304	H <sup>3</sup> , I <sup>5</sup> , J <sup>5</sup> , K <sup>4</sup> , L <sup>3</sup> , M <sup>5</sup>	1,584	0,833
HMS3	5	3,911	I <sup>4</sup> , M <sup>3</sup> , N <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>4</sup>	1,409	0,795	6	4,985	I <sup>4</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>4</sup> , O <sup>4</sup> , P <sup>4</sup> , Q <sup>5</sup>	1,636	0,778
HMS6	5	2,648	K <sup>3</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>1</sup>	1,197	0,591	5	3,498	K <sup>5</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>3</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>3</sup>	1,409	0,741
HMS7	6	4,440	J <sup>4</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>4</sup> , O <sup>3</sup>	1,592	0,864	6	5,166	J <sup>3</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>4</sup> , O <sup>4</sup>	1,691	0,852
HTG4	4	1,800	K <sup>4</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>1</sup> , O <sup>5</sup>	0,780	0,500	5	2,438	K <sup>2</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>1</sup> , N <sup>5</sup> , P <sup>5</sup>	1,055	0,537
HTG6	5	2,940	G <sup>4</sup> , I <sup>5</sup> , J <sup>3</sup> , O <sup>1</sup> , R <sup>5</sup>	1,211	0,727	5	3,142	G <sup>3</sup> , I <sup>5</sup> , J <sup>3</sup> , O <sup>2</sup> , R <sup>5</sup>	1,208	0,667
HTG7	5	2,331	K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>2</sup> , O <sup>1</sup> , P <sup>5</sup>	1,015	0,500	5	2,443	K <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>4</sup> , O <sup>1</sup> , P <sup>5</sup>	1,159	0,667
HTG10	6	3,864	I <sup>4</sup> , K <sup>5</sup> , M <sup>4</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>2</sup> , R <sup>5</sup>	1,473	0,886	7	4,730	I <sup>4</sup> , K <sup>5</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>5</sup> , N <sup>5</sup> , O <sup>3</sup> , R <sup>4</sup>	1,651	0,899
VHL20	6	3,037	I <sup>4</sup> , J <sup>5</sup> , L <sup>5</sup> , M <sup>1</sup> , N <sup>4</sup> , R <sup>5</sup>	1,329	0,704	7	4,336	I <sup>3</sup> , L <sup>4</sup> , M <sup>3</sup> , N <sup>4</sup> , O <sup>5</sup> , P <sup>5</sup> , R <sup>5</sup>	1,567	0,722
Mean	6,133	3,270		1,337	0,717	6,000	3,877		1,449	0,741
St. Dev.	1,457	0,912		0,267	0,134	1,254	1,105		0,277	0,106

\* n – брой коне; Na – наблюдаван брой алели; Ne – ефективен брой алели; I – индекс на Shannon; Ho – средна наблюдавана хетерозиготност  
 \* n – observed number of horses; Na – observed numbers of alleles; Ne – effective numbers of alleles; I – Shannon's index; Ho – average observed heterozygosity

\* Диапазони на алелната честота<sup>1-5</sup>: I ≥ 0,45; 0,35 ≥ 2 ≤ 0,44; 0,25 ≥ 3 ≤ 0,35; 0,15 ≥ 4 ≤ 0,24; 0,00 ≥ 5 ≤ 0,14

\* Allele's frequency<sup>1-5</sup>: I ≥ 0,45; 0,35 ≥ 2 ≤ 0,44; 0,25 ≥ 3 ≤ 0,35; 0,15 ≥ 4 ≤ 0,24; 0,00 ≥ 5 ≤ 0,14

ни редките алели T и U в локусите ASB23 и HMS3, и Q в HMS3 и VHL20.

Обобщено за разглежданите фамилии не е установена съществена разлика между Но ( $0,739 \pm 0,086$ ) и Не ( $0,728 \pm 0,089$ ). Малко по-ниска е средната хетерозиготност ( $0,682 \pm 0,080$ ), като дефицит на хетерозиготи се наблюдава в локусите HTG4 ( $0,561$ ), АНТ4 ( $0,563$ ), HTG7 ( $0,564$ ), HMS1 ( $0,570$ ) и HTG6 ( $0,636$ ). По данни на Sabeva, I. (2021, 2022) средната хетерозиготност за породата е била  $0,732 \pm 0,052$ , а за генеалогичните линии  $0,638 \pm 0,092$ . С най-ниски стойности на Ave\_Net при линиите са били локусите HTG7 ( $0,414$ ), HTG6 ( $0,542$ ), HTG4 ( $0,547$ ), HMS1 ( $0,530$ ) и АНТ4 ( $0,600$ ). Получените данни за микросателитния профил на порода и нейните структурни единици са отражение на прилаганите в коневъдството класически методи на развъждане, базирани на междулинейни и линейно-фамилни кръсове. При продължителна селекция повишените нива на хомозиготност в определени локуси могат да бъдат индикатор и за наличие на консолидирана наследственост по отношение на определени продуктивни признаци.

Генетичните дистанции, изчислени въз основа на коефициента на генетична диференциация между фамилиите ( $F_{st}$ ), са показани на таблица 3. Получените стойности по отношение на генетичната идентичност и генетични дистанции са резултат от прилагани линейно-фамилен кръс, внасяне на нови компоненти на наследственост чрез облагородително кръстосване и смесването на две относително самостоятелно развъждани стада след закриването на конезавода Стефан Караджа през 2006 г. От дендрограмата, представена на фигура 1, се вижда, че не е налице клъстерна диференциация. За разлика от линиите, в които в продължение на едно столетие от развитието на породата се е осъществявал междустопански трансфер на генетичен материал, фамилиите са се развивали предимно в конезавода, в който са заложени. Най-високо генетично сходство е установено между фамилиите на: Ликующа и Лейла, заложени и развивали се основно в КЗ Кабиюк; Лонгуза и Охота, развиващи се през последните два генерационни интервала предимно в частния сектор; следвани от

**Таблица 3.** Генетична идентичност (над диагонала) и генетични дистанции (под диагонала) между фамилиите

**Table 3.** Genetic identity (above the diagonal) and genetic distances (below the diagonal) between families

Фамилия <sup>1</sup> / Family <sup>1</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	****	0,8318	0,7946	0,7701	0,7755	0,7966	0,7030	0,7280	0,8106	0,7457
2	0,1841	****	0,8544	0,8252	0,8475	0,8779	0,7913	0,8426	0,8932	0,8122
3	0,2299	0,1573	****	0,8325	0,8461	0,8854	0,8147	0,8449	0,9250	0,8277
4	0,2613	0,1921	0,1833	****	0,8623	0,8548	0,7911	0,7981	0,8821	0,8667
5	0,2542	0,1654	0,1672	0,1482	****	0,9424	0,7979	0,8761	0,8947	0,8420
6	0,2275	0,1302	0,1217	0,1569	0,0594	****	0,8708	0,9028	0,9281	0,8328
7	0,3524	0,2340	0,2049	0,2343	0,2258	0,1383	****	0,8186	0,8613	0,8288
8	0,3174	0,1713	0,1685	0,2255	0,1323	0,1022	0,2001	****	0,8893	0,8180
9	0,2100	0,1129	0,0780	0,1254	0,1113	0,0747	0,1493	0,1173	****	0,8786
10	0,2935	0,2080	0,1891	0,1431	0,1720	0,1830	0,1878	0,2009	0,1294	****

<sup>1</sup>1 – Ходейда, 2 – Килия, 3 – Лонгуза, 4 – Охота, 5 – Ликующа, 6 – Лейла, 7 – Неразделна, 8 – Славянка, 9 – Водка, 10 – Материя

<sup>1</sup>1 – Hodeida, 2 – Kilia, 3 – Longuza, 4 – Ohota, 5 – Likuyushta, 6 – Leila, 7 – Nerazdelna, 8 – Slavyanka, 9 – Vodka, 10 – Materia

Водка и Славянка и т.н. (таблица 3). През последните две генерации (след обединяването на заводските и частичното преминаване на кобили в частния сектор) се наблюдава намаляване на генетичните дистанции между фамилиите от двете заводски стада – между Лонгуза и Охота, Неразделна и Ликующа и Лейла (фигура 1).

### Заклучение

Висок полиморфизъм при фамилиите на Източнобългарската порода коне е установен в локусите ASB17, ASB23 и ASB2. Средновисоко по стойност е генетичното разнообразие в HTG10 и VHL20. Наблюдаваната, очакваната и средната хетерозиготност са близки до тези за породата. Специфичният профил на всяка една от изследваните фамилии се определя от алелите с ниска честота и от дела на хомозиготните генотипи в локусите HTG4, АНТ4, HTG7, HMS1 и HTG6, при които се наблюдава дефицит на хетерозиготи. Рядко срещани комбинации при ездовите породи

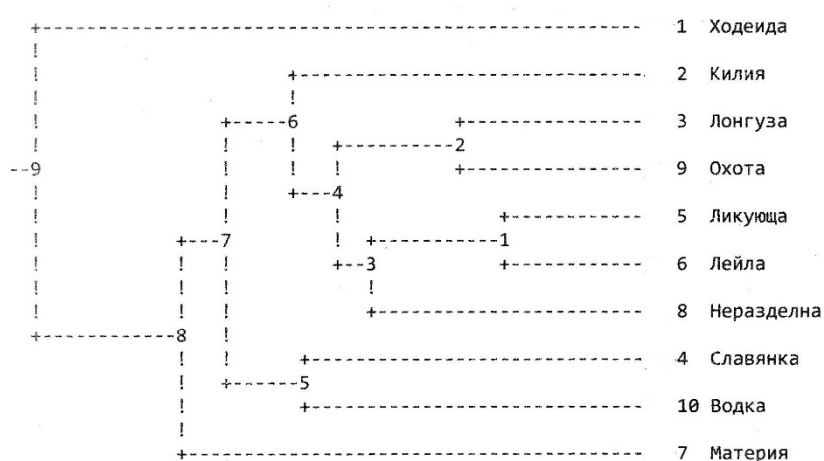
коне са G в АНТ4 при фамилията на Охота; T в ASB23 при Ликующа и Лейла; S, T и U в ASB23 при Лонгуза и S и U в ASB23 при Килия. Q в HMS3 се среща при коне от фамилиите на Ликующа и Охота, а Q във VHL20 и T в HMS3 – само при коне от фамилията на Лейла. Алелът R е установен в локуса HMS2 при фамилиите на Ликующа и Неразделна и в HMS6 при Неразделна и Охота.

Близки генетични връзки са установени между фамилиите на Ликующа и Лейла и между Лонгуза и Охота. През последните две генерации се наблюдава намаляване на генетичните дистанции между фамилиите на Лонгуза и Охота и между Неразделна, Ликующа и Лейла.

### Литература

Shelyov, A. V., Kopylov, K. V., Kramarenko, S. S., & Kramarenko, A. S. (2020). Genetic structure of different equine breeds by microsatellite DNA loci. *Agricultural Science and Practice*, 7(2), pp. 3-13.

Atiq, I., Zahoor, I., Basheer, A., & Khan, W. (2018). Genetic diversity, population structure and phylogenetic



\*между: 1 – 9 дължина 12,94; 2 – 6 дължина 7,37; 3 – 2 дължина 3,89; 9 – 2 дължина 3,89; 5 – 1 дължина 2,96; 6 – 1 дължина 2,96; 8 – 3 дължина 5,86; 4 – 5 дължина 7,15; 10 – 5 дължина 7,15; 7 – 8 дължина 9,84.

\*between: 1 – 9 length 12.94; 2 – 6 length 7.37; 3 – 2 length 3.89; 9 – 2 length 3.89; 5 – 1 length 2.96;

6 – 1 length 2.96; 8 – 3 length 5.86; 4 – 5 length 7.15; 10 – 5 length 7.15; 7 – 8 length 9.84.

\*1 – Hodeida, 2 – Kilia, 3 – Longuza, 4 – Slavyanka, 5 – Likuyusha, 6 – Leila, 7 – Materiya, 8 – Nerazdelna, 9 – Ohta, 10 – Vodka.

Фиг. 1. Дендрограма на изследваните фамилии (метод UPGMA).

Fig. 1. Dendrogram of studied families (method UPGMA).



relationship of race, sports, draft and wild type horses. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(1), pp. 155-158.

**Barzev, G., Zhelyazkov, E., Barzeva, V., Hristova, D., & Sabev, Z.** (2010). Genetic diversity in Bulgarian Thoroughbred using microsatellite DNA markers. *Agricultural science and technology*, 2(3), pp. 116-120.

**Cunningham, E. P., Dooley, J. J., Splan, R. K., & Bradley, D. G.** (2001). Microsatellite diversity, pedigree relatedness and the contributions of founder lineages to thoroughbred horses. *Animal genetics*, 32(6), pp. 360-364.

**Dieringer, D., & Schlötterer, C.** (2003). Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular ecology notes*, 3(1), pp. 167-169.

**Guerin, G., Bertaud, M., & Amigues, Y.** (1994). Characterization of seven new horse microsatellites: HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7 and HMS8. *Animal Genetics (United Kingdom)*.

**Eo, J., Gim, J. A., Choi, B. H., Park, K. D., Yang, Y. M., Lee, H. K., & Kim, H. S.** (2014). Genetic profiling of thoroughbred racehorses by microsatellite marker analysis. *Genes & Genomics*, 36, pp. 119-123.

**International Society of Animal Genetics (ISAG).** Available from: <http://www.iasag.us/>.

**Kakoi, H., Tozaki, T., Hirota, K., & Mashima, S.** (1999). Genetic polymorphisms of equine microsatellite loci: TKY16, TKY19 and TKY21. *Animal genetics*, 30(1), pp. 68-69.

**Kalinkova, L. V., Kalinkina, G. V., & Makhmutova, O. N.** (2019, October). The influence of crossbreeding on genetic structure of the Orlov Trotter breed. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 341, No. 1, p. 012064). IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012064.

**Karaivanov, R., & Ganchev, D.** (1981). Horsebreeding. Zemizdat, Sofia, pp. 202 (Bg).

**Khrabrova, L. A., Blohina, N. V., Belousova, N. F., & Cothran, E. G.** (2022). Estimation of the Genealogical Structure of Vyatka Horse Breed (*Equus ferus caballus*) Using DNA Analysis. *Russian Journal of Genetics*, 58(4), pp. 462-466.

**Kwon, D. Y., & Cho, G. J.** (2009). Standardization and usefulness of ISAG microsatellite markers for individual identification and parentage verification in horse breeds. *Journal of Veterinary Clinics*, 26(3), pp. 220-225.

**Meyer, A. H., Valberg, S. J., Hillers, K. R., Schweitzer, J. K., & Mickelson, J. R.** (1997). Sixteen new polymorphic equine microsatellites. *Animal Genetics (United Kingdom)*, 28, pp. 69-70.

**Sabeva, I.** (1998). Using the genealogical group's effect for progeny testing of East-Bulgarian broodmares. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, (4), pp. 329-332.

**Sabeva, I.** (2021). Microsatellite DNA profile in the East Bulgarian horse breed. *Zhivotnovadni Nauki*, 58(4), pp. 3-11 (Bg).

**Sabeva, I.** (2022). Microsatellite DNA profile of genealogical lines in the East Bulgarian horse breed. *Zhivotnovadni Nauki*, 59(4), pp. 25-35 (Bg).

**Sargious, M. A., Ahmed, H. A., El-Shawarby, R. M., Bakery, H. H., Ramadan, S. I., Cothran, E. G., & Farid, A. S.** (2021). Genetic Diversity and Population Assignment of Arabian Horses.

**Seyedabadi, H. R., & Sofla, S. S.** (2017). Microsatellite analysis for parentage verification and genetic characterization of the Turkmen horse population. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23(3), pp. 467-471. DOI:10.9775/kvfd.2016.17096.

**Ustyantseva, A. V., Khrabrova, L. A., Abramova, N. V., & Ryabova, T. N.** (2019, October). Genetic characterization of Akhal-Teke horse subpopulations using 17 microsatellite loci. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 341, No. 1, p. 012070). IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012070.

**Vdovina, N. V., & Yuryeva, I. B.** (2021). Monitoring for the genetic structure of Mezen breed of horses in terms of DNA microsatellites. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 25(2), pp. 202-207. DOI 1018699/VJ21.024.

**Vlaeva, R.** (2015). *Dynamic in development of Thoroughbred horses population – genealogical structure and genetic diversity*. PhD Dissertation, Trakia University, Stara Zagora, p.160 (Bg).

**Vlaeva, R., & Lukanova, N.** (2015). DNA MICRO-SATELLITE ANALYSIS OF THE THOROUGHBRED HORSE POPULATION IN BULGARIA. GENETIC RELATIONSHIPS BETWEEN THE STUDIED SIRE-LINES. *Trakia Journal of Sciences*, 13(1), pp. 83-87.

**Winton, C. L., McMahon, R., Hegarty, M. J., McEwan, N. R., Davies-Morel, M. C., Morgan, C. & Nash, D. M.** (2020). Genetic diversity within and between British and Irish breeds: The maternal and paternal history of native ponies. *Ecology and evolution*, 10(3), pp. 1352-1367. DOI: 10.1002/ece3.5989.

**Yordanov, G., Mehandjyiski, I., Palova, N., Atse-nova, N., Neov, B., Radoslavov, G. & Hristov, P.** (2022). Genetic Diversity and Structure of the Main Danubian Horse Paternal Genealogical Lineages Based on Microsatellite Genotyping. *Veterinary Sciences*, 9(7), 333. <https://doi.org/10.3390/vetsci9070333>.

**Zaitseva, M. A.** (2010). *Breed-specific features of microsatellites of DNA of horses of stud and local breeds*. All-Russian Research Institute of Horse Breeding. Abstract of the dissertation for the degree of Candidate of Agricultural Sciences: 23. (RU)